

Dendrogram of cluster analysis

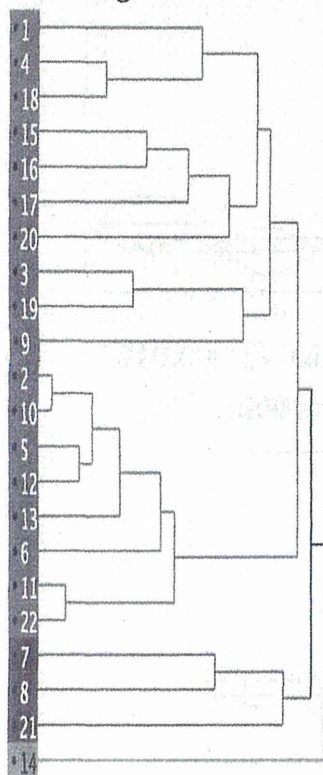


Fig. 4. Cluster analysis of the 22 cases. Case No. 14 was identified as an outlier.

as microRNA, not of formation of DNA adducts (28), but some of the adducts described in this study are known to be mutagenic (29–31); thus, these lipid peroxidation-derived DNA adducts may, at least in part, be responsible for the carcinogenic origins of the human gastric cancers in this series.

Table III. Results of discriminate analysis using seven adduct levels as the discriminating score to predict the origin of the specimen in 21 cases

Real origin	Square distance	Probability	Predicted probability	Predicted category
C	8.91653	0.9986	0.9986	C
C	1.41919	0.8686	0.8686	C
C	8.60098	0.9444	0.9444	C
C	6.09944	0.998	0.998	C
C	1.36231	0.9175	0.9175	C
C	7.82509	0.9769	0.9769	C
C	14.87972	0.6381	0.6381	C
C	12.39559	0.9982	0.9982	C
C	11.20971	0.9999	0.9999	C
C	1.71078	0.7945	0.7945	C
C	2.57192	0.7579	0.7579	C
C	2.10673	0.9117	0.9117	C
J	2.73173	0.947	0.947	J
J	2.77308	0.9958	0.9958	J
J	5.78756	0.9818	0.9818	J
J	11.33611	0.9832	0.9832	J
J	5.8705	0.5033	0.5033	J
J	3.35645	0.8798	0.8798	J
J	5.57043	0.9998	0.9998	J
J	13.27304	0.9983	0.9983	J
J	3.2031	0.575	0.575	J

C indicates Lujiang Hospital and J indicates Hamamatsu University Hospital.

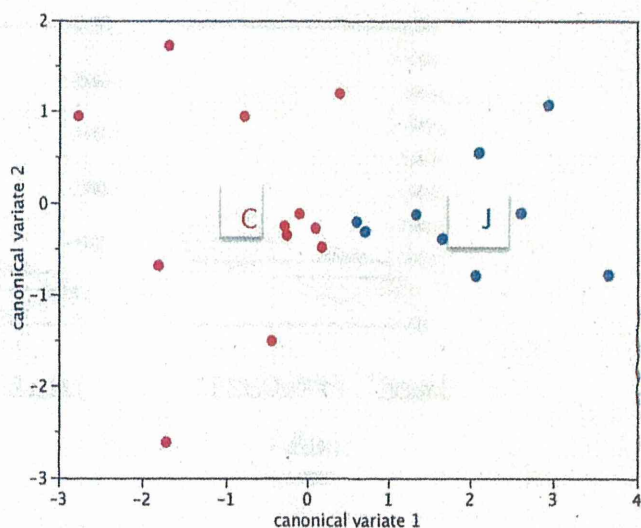


Fig. 5. A scattered diagram showing a discriminant analysis of the 21 cases (excluding the one outlier case) with seven variables. The red and blue dots represent the cases from Lujiang (C) and Hamamatsu (J), respectively.

From another perspective, our data may suggest that a pathway other than the peroxidation-inflammatory pathway may contribute to carcinogenesis. The Chinese gastric mucosa samples derived from patients in Lujiang county had lower levels of oxidative DNA damage, but Lujiang has a higher prevalence of gastric cancer than Japan. Other environmental insults may be revealed with further annotation of the observed adducts, possibly including alkylating agent-related adducts. Actually, the pooled-DNA adductome map, which was used as a screening procedure in this study, contains many other peaks that may not be lipid peroxidation related. It is assumed that there are many subjects who do not have detectable lipid peroxidation-related adducts. The continued effort of identifications of the other adducts will be necessary to comprehensive understanding of gastric carcinogenesis, and adductome approach, though at the burgeoning stage, may become one of the important omics in the field of carcinogenesis.

In conclusion, we first demonstrated the existence of lipid peroxidation-related DNA adducts in the human stomach and addressed their implications in the assessment of the environmental and endogenous exposure of human beings to these possible mutagens. In addition, considering that gastric cells have a battery of repair genes that respond to or repair DNA damage, the presently reported results may promote understanding of the role of repair genes in gastric carcinogenesis, a topic that has recently attracted enthusiastic interest in the field of carcinogenesis research (32–36).

#### Funding

This project was approved by the government of Jiangsu Province, China, under the project title, 'Study on the relationship between the epi-germline mutation of tumor suppressor genes and the pathogenesis of gastrointestinal cancers' (the International Science and Technology Cooperation Project of Jiangsu, grant number: BZ2008055). This work was also supported by Grants-in-Aids (Research on International Cooperation in Medical Science, Grants-in-Aids for Cancer Research, 21-1) from the Ministry of Health, Labour and Welfare; the Japan Society for the Promotion of Science (22590356 and 22790378); the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (221S0001); the Princess Takamatsu Cancer Research Foundation and the Smoking Research Foundation of Japan.

Conflict of Interest Statement: None declared.

## References

- Weinberg, R.A. (2007) *The Biology of Cancer*. Garland Science, New York, NY.
- Clayson, D.B. (1985) International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC Working Paper No. 2. Diet, mutation and cancer. *Mutat. Res.*, **154**, 205–217.
- Shields, P.G. *et al.* (1991) Molecular epidemiology and the genetics of environmental cancer. *JAMA*, **266**, 681–687.
- Kanaly, R.A. *et al.* (2006) Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans. *Antioxid. Redox Signal.*, **8**, 993–1001.
- Kanaly, R.A. *et al.* (2007) Application of the adductome approach to assess intertissue DNA damage variations in human lung and esophagus. *Mutat. Res.*, **625**, 83–93.
- Chou, P.H. *et al.* (2010) Detection of lipid peroxidation-induced DNA adducts caused by 4-oxo-2(E)-nonenal and 4-oxo-2(E)-hexenal in human autopsy tissues. *Chem. Res. Toxicol.*, **23**, 1442–1448.
- Nagao, M. (1999) A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens–heterocyclic amines–based on molecular information. *Mutat. Res.*, **431**, 3–12.
- De Koster, E. *et al.* (1994) *Helicobacter pylori*: the link with gastric cancer. *Eur. J. Cancer Prev.*, **3**, 247–257.
- Farinati, F. *et al.* (1998) Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut*, **42**, 351–356.
- Kawanishi, S. *et al.* (2006) Oxidative and nitrate DNA damage as biomarker for carcinogenesis with special reference to inflammation. *Antioxid. Redox Signal.*, **8**, 1047–1058.
- Piazuelo, M.B. *et al.* (2010) Gastric cancer: an infectious disease. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, **24**, 853–69, vii.
- Tan, S.L. *et al.* (2011) Is the tissue persistence of O(6)-methyl-2'-deoxyguanosine an indicator of tumour formation in the gastrointestinal tract? *Mutat. Res.*, **721**, 119–126.
- Terasaki, M. *et al.* (2008) Detection of endogenous DNA adducts, O-carboxymethyl-2'-deoxyguanosine and 3-ethanesulfonic acid-2'-deoxycytidine, in the rat stomach after duodenal reflux. *Cancer Sci.*, **99**, 1741–1746.
- Spigelman, A.D. *et al.* (1991) DNA adducts, detected by 32P-postlabelling, in the foregut of patients with familial adenomatous polyposis and in unaffected controls. *Carcinogenesis*, **12**, 1727–1732.
- Abdul-Momen, M. *et al.* (2003) DNA adducts detected in human gastric mucosa. *Cancer Detect. Prev.*, **27**, 209–215.
- Nagayoshi, H. *et al.* (2009) Increased formation of gastric N(2)-ethylidene-2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase-2 knockout mice treated with ethanol. *Mutat. Res.*, **673**, 74–77.
- Marsden, D.A. *et al.* (2009) Dose-response relationships for N7-(2-hydroxyethyl)guanine induced by low-dose [14C]ethylene oxide: evidence for a novel mechanism of endogenous adduct formation. *Cancer Res.*, **69**, 3052–3059.
- Nakamura, A. *et al.* (2007) Determination of mutations of the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* by allele specific primer-polymerase chain reaction method. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **22**, 1057–1063.
- Furuta, T. *et al.* (2005) Influence of CYP2C19 polymorphism and *Helicobacter pylori* genotype determined from gastric tissue samples on response to triple therapy for *H. pylori* infection. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, **3**, 564–573.
- Matsumoto, K. *et al.* (2009) Correlation between voriconazole trough plasma concentration and hepatotoxicity in patients with different CYP2C19 genotypes. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **34**, 91–94.
- Kim, H.N. *et al.* (2001) Changes in DNA 8-hydroxyguanine levels, 8-hydroxyguanine repair activity, and hOGG1 and hMTH1 mRNA expression in human lung alveolar epithelial cells induced by crocidolite asbestos. *Carcinogenesis*, **22**, 265–269.
- Kawai, K. *et al.* (2010) DNA modifications by the omega-3 lipid peroxidation-derived mutagen 4-oxo-2-hexenal *in vitro* and their analysis in mouse and human DNA. *Chem. Res. Toxicol.*, **23**, 630–636.
- Ward, J.H. (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J. Am. Statist. Assoc.*, **58**, 236–244.
- Yang, L. (2006) Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J. Gastroenterol.*, **12**, 17–20.
- Speed, N. *et al.* (2011) Cyclooxygenase- and lipoxygenase-mediated DNA damage. *Cancer Metastasis Rev.*, **30**, 437–447.
- Correa, P. (1995) The role of antioxidants in gastric carcinogenesis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **35**, 59–64.
- Correa, P. *et al.* (2006) Etiopathogenesis of gastric cancer. *Scand. J. Surg.*, **95**, 218–224.
- Schetter, A.J. *et al.* (2010) Inflammation and cancer: interweaving micro-RNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis*, **31**, 37–49.
- Pollack, M. *et al.* (2006) Translesion DNA Synthesis across the heptanone–etheno-2'-deoxycytidine adduct in cells. *Chem. Res. Toxicol.*, **19**, 1074–1079.
- Levine, R.L. *et al.* (2000) Mutagenesis induced by a single 1,N6-ethenodeoxyadenosine adduct in human cells. *Cancer Res.*, **60**, 4098–4104.
- Moriya, M. *et al.* (1994) Mutagenic potency of exocyclic DNA adducts: marked differences between *Escherichia coli* and simian kidney cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 11899–11903.
- Li, W.Q. *et al.* (2009) Association between genetic polymorphisms of DNA base excision repair genes and evolution of precancerous gastric lesions in a Chinese population. *Carcinogenesis*, **30**, 500–505.
- Goto, M. *et al.* (2009) Altered expression of the human base excision repair gene NTH1 in gastric cancer. *Carcinogenesis*, **30**, 1345–1352.
- Goto, M. *et al.* (2010) Three novel NEIL1 promoter polymorphisms in gastric cancer patients. *World J. Gastrointest. Oncol.*, **2**, 117–120.
- Shinmura, K. *et al.* (2004) Inactivating mutations of the human base excision repair gene NEIL1 in gastric cancer. *Carcinogenesis*, **25**, 2311–2317.
- Shinmura, K. *et al.* (2011) Reduced expression of MUTYH with suppressive activity against mutations caused by 8-hydroxyguanine is a novel predictor of a poor prognosis in human gastric cancer. *J. Pathol.*, **225**, 414–423.

Received August 2, 2012; revised September 4, 2012; accepted October 7, 2012

## 家族性胃癌

梶村 春彦<sup>\*1</sup> 山田 英孝<sup>\*1</sup> 陶 弘<sup>\*1</sup> 新村 和也<sup>\*1</sup> 岩泉 守哉<sup>\*2</sup>  
 嵩 眞佐子<sup>\*3</sup>

[*Jpn J Cancer Chemother* 40(2):154-158, February, 2013]

Familial Gastric Cancer—An Update of Japanese Cases: Haruhiko Sugimura<sup>\*1</sup>, Hidetaka Yamada<sup>\*1</sup>, Hong Tao<sup>\*1</sup>, Kazuya Shinmura<sup>\*1</sup>, Moriya Iwaizumi<sup>\*2</sup> and Masako Kasami<sup>\*3</sup> (<sup>\*1</sup>*Dept. of Tumor Pathology, and* <sup>\*2</sup>*Dept. of Molecular Diagnostics, Hamamatsu University School of Medicine,* <sup>\*3</sup>*Division of Laboratory Medicine, Iwata City Hospital)*

## Summary

Since the international gastric cancer linkage consortium first proposed screening criteria for the detection of *CDH1* germline mutations in hereditary diffuse gastric cancer (HDGC), the low yields of previous attempts to identify patients with HDGC in Japan, where gastric cancer is endemic and mass screenings for it have been established, have made clinicians less enthusiastic about pursuing the genetic etiology of the peculiar occurrence of gastric cancer. A report published in 2011 described a case with a typical truncated mutation of *CDH1* and another with an exon 3 deletion of this gene. These findings have rekindled the curiosity of practitioners and pathologists confronted with unusual gastric cancers of various types such as younger-onset, familial clustering, or the exhibition of a specific characteristic morphology. The status and history of the investigation of the genetic backgrounds of Japanese gastric cancers are reviewed, and the pathological features of the Japanese cases of HDGC are described. Key words: Hereditary diffuse gastric cancer, *CDH1*, Molecular epidemiology, Signet ring cell carcinoma, Corresponding author: Haruhiko Sugimura, Department of Tumor Pathology, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1 Handayama, Higashi-ku, Hamamatsu, Shizuoka 431-3192, Japan

**要旨** 胃癌の遺伝連鎖解析国際コンソーシアムが、遺伝性びまん性胃癌 (HDGC) の *CDH1* のスクリーニングをするための診断基準を提案して以来、胃癌の頻度が高く、また集団検診も確立されている本邦での探索は、実り多かつたとはいえ、そのことが日常診療で胃癌の遺伝的要因への追求があまりなされなくなった理由なのではと思われる。2011年の、典型的な *CDH1* の欠損蛋白を生じるタイプの変異例とさらに *CDH1* のエクソン3の欠失例が本邦にも存在したという報告は、改めて、日常診療の上で若年発症、家族性発症、特異な組織像といったまれな胃癌例に遭遇する実地診療家や病理医の胃癌の遺伝的要因についての関心を引き起こすと思われる。本邦における胃癌の遺伝的要因の歴史を概観し、本邦のHDGCの組織像を呈示する。

## はじめに

胃癌研究会という、現在の日本胃癌学会の前身の組織が、当番世話人の浜松医科大学 故喜納勇教授 (当時) によって開催され、家族集積性胃癌をテーマとして取り上げたのは1994年のことである。当時、遺伝性の大腸の原因遺伝子が続々と明らかになっているころであり、胃癌においても似た現象があるのであろうという着想であった。一方、連鎖解析をするほどの大家系などは、恐らく

見つからないであろうという予想があり、集めてどうするのだという計画はあまり明確ではなかった。残念なことにそのプロジェクトは、喜納勇教授が急死されたこともあり、いったん止まったような形になったが、1998年に胃癌を多数発生するマオリ族の大家系が Guilford らにより解析され、当時でも日本人の研究者にたいへんなじみのあった E-カドヘリン (*CDH1*) の生殖細胞系列の変異が見つかった<sup>1)</sup>。現在では遺伝性びまん性胃癌 hereditary diffuse gastric carcinoma (HDGC) といわれる

<sup>\*1</sup> 浜松医科大学・腫瘍病理学講座

<sup>\*2</sup> 同 分子診断学

<sup>\*3</sup> 磐田市立総合病院・臨床検査科

この疾患は大いに話題になった。すぐさま、この遺伝子 *CDHI* の変異や遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) (本誌富田の項参照) で重要となる replication error (RER, 現在は microsatellite instability, MSI という言葉のほうがよく使われる) などの指標が、当時国立がんセンターの Yokota, Shinmura らによって検索され、その結果は本邦の家族性胃癌についての決定版としてよく引用される<sup>2)</sup>。家族性胃癌の原因には、p53<sup>3)</sup>や STK11<sup>4)</sup> などもあり、また、分化型の胃癌の家族集積性も別個に議論されるが最近の総説に詳しい<sup>5)</sup>ので、ここでは触れず、本稿では主に HDGC について述べる。

過去を振り返る際に重要なのは、遺伝子検索の方法論、特にコストの変化である。家族歴からみて絶対に疑わしいという症例を選んで、少ない労力で有効な情報を返すというのは当然であり、あるいは対象集団での実態を把握することも重要である。本邦や韓国、ポルトガルのようにもともと胃癌頻度の高いところでは、頻度の低いところの家族集積と同じ基準を適用しても多くの非遺伝性の家族集積例が入ってしまい、遺伝子を原因として求める努力は徒労に終わる可能性もある。特に分化型の胃癌の家族集積についてはこれらの基準を胃癌低頻度国と胃癌高頻度国とで異なったものが提唱されている<sup>6)</sup>。パーソナルゲノムの時代からは実感がわからないが、*CDHI* の遺伝子変化についてもまず、single strand conformation polymorphism (SSCP) というスクリーニング用の優れた方法でふるいに掛けてから塩基配列を決めるという方法が採用され、1999~2004年迎りまで、International Gastric Cancer Linkage Consortium もどちらかというところやみくもな遺伝子検索をしないように種々の診断基準を呈示している<sup>7,8)</sup>。時代とともに、あるいは症例が増えるたびに関連病歴の存在、たとえば乳腺の小葉癌や、大腸の印環細胞癌、前立腺癌といったものなども含めてきている。さらに、家族歴のないものなども報告されるようになってきている<sup>9)</sup>。

現時点で、ちょっと変な腫瘍があれば、体細胞にせよ生殖系列の細胞にせよ、そのゲノムの全ゲノムを解析するという事は、少なくとも一般病院ではなされていない。多くの全ゲノム解析をしている先端的施設の研究者も、その output を解析するバイオインフォマティクスの必要性などいわゆる big data を扱う困難さ、あるいはコストについて極めて慎重なものにする場合が多い。特に大量の結果のうち真に患者の病態に関連するのはどれか、関連しないけれど深刻なものはどれか、そもそも全ゲノム解析の同意というのは、子孫の同意を取れないこともあり、絶対的なものではないのでどう対処すればよいのかといった、倫理的問題への対処も必要

となる。倫理委員会 (Institutional Review Board, IRB) の対応も施設によって異なるようである。一方で、本邦の胃癌の診療レベルを考えると、明らかに遺伝的要因がある胃癌家系では予防的胃切除も含めた actionable な領域であり、手を拱いているだけだと将来不作為を問われかねない。

## I. 診断基準の変化

2010年の update<sup>10)</sup>では、1999年の診断基準をやや緩和することを勧めている。びまん型の胃癌に遭遇したら、①50歳以下のびまん性胃癌を含む2名以上の胃癌が家族にいるか、②年齢にかかわらず、3名以上のびまん性胃癌が1, 2親等以内にいるか (法律的な用語と多少異なる)、③家族歴にかかわらず40歳以下であるか、④本人あるいは家族にびまん性胃癌と小葉性乳癌があり少なくとも一方が50歳未満で診断されているものであるかである。

この四つの条件のどれかが当てはまったら、*CDHI* の遺伝子検査 (後述の multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA を含む) を受ける同意を取り、予防的胃切除を含むフォローアップ体制に入るといった図が書かれている。上部消化管のサーベイランスのシステムの成否は保険診療制度も含めた内視鏡検査の普及度、場合によっては技量なども関係してくると思われる。予防的胃切除などは、いくら手術がうまい本邦の外科医でも慎重であるし、恐らくは内視鏡医の眼力も違うので、癌の存在を確かめてからになるのではと思う。最近、予防的胃切除例での粘膜内病変での mapping が発表されていて<sup>11)</sup>、内視鏡での検索の精度を上げるための基礎データという視点でまとめられている。

ここに述べた条件は、それまでの報告例で、従来の基準を満たさなくても *CDHI* の変異が見つかった例の臨床型などを徐々に含めていったものがあり、恐らくはまた変わるであろう。注目すべきは孤発でも40歳以下なら検索すべしという条件である。本誌にもある Li-Fraumeni 症候群あるいは生殖細胞系列の p53 の変異などでも *de novo* の変化はあり<sup>12)</sup>、すると *CDHI* の遺伝子解析の対象範囲は相当増えるだろう。胃癌の年齢分布を厚生労働省の統計でみても、また日常診療においても40歳以下の胃癌というのは著しくまれという印象をもっていない。“スキルス胃癌は若い女性に多い”などという、いい方は今でも多くのメディアやネット上で見受けられる。また、胃の疾患は症状の感じ方が主観的で、見つかるのが遅いと40代をわずかに超えることもあろう。そうすると40代前半くらいの、未分化系胃癌が全部対象になってしまう。



## II. 方法論の変化

初期には、組織像の他に、とにかく家族歴と発症年齢が重要でスクリーニング方法として SSCP が推奨されていたが、直接に全エクソンの塩基配列を決めることがコスト的あるいは技術的にも容易になり、普及しだした。さらに、MLPA や comparative genomic hybridization (CGH) で、大きなゲノムの再構成をみることを推奨している。方法論は、当然これから数年で大きく変わることはほぼ確実であるし、それによって *CDHI* 以外の遺伝子の異常が明らかになる可能性がある。ゲノムの再構成などはサイズによっては現在普通にいわれている次世代シーケンスでは見つけるのが苦手な場合もあるという。次世代といわれるようなあるいはさらに優れたシステムが登場した場合はその扱いも可能になるであろう。遺伝子検索への技術的、経済的障壁は今後ますます低くなっていくが、現在重要なのは、将来の遺伝子検査像も考えた上での同意の取り方、説明の仕方、検体の保存や将来の使用についての理解、データの扱いや情報の公開・共有と個人情報の秘密保持についての留意であると思う。全ゲノム解析をすとか、情報を web 上かつ研究者間で国際的に共有するといった内容は、深く理解した上での同意というの是一般の方にとっては現実的ではないのではないかという見方すらある。全ゲノム解析という言葉を含んだ同意書などが推奨されている。

## III. 病理像

本邦の胃癌の病理については、症例数の多さと、胃の造影や胃カメラの発達と並行して発展してきた微小病変や、いわゆる早期病変の認識により、発表しているかどうかはさておき、蓄積されている知見、各医師の経験知は極めて多い。胃の早期病変の記述に始まる本邦胃癌の病理の研究は、術後胃を広範かつ詳細に検索する、つまり多数の切片をくまなく切りだし、具に検鏡するという極めて labor intensive な作業を伴うもので、この作業は胃癌の手術が行われていれば、通常の病理医の勤務する津々浦々のどんな病院でも routine 化する事態にまで発展した。その間、*Helicobacter* に類する細菌も“みていた”し、もちろん HDGC も“みていた”と思われる。遺伝的に HDGC と診断され、予防的胃切除を行われた検体が、病理学的に検索されるようになり、それらの報告をみると、本邦の胃癌取扱い規約の推奨する方法に近いが（向きは垂直であるが）、多数の切片を切りだし、大弯びらきをした胃粘膜の図に癌の部位や深さを plot するという形で発表されている。これらのなかで、最も特徴的なのは印環細胞癌の巣が多発しているということであ

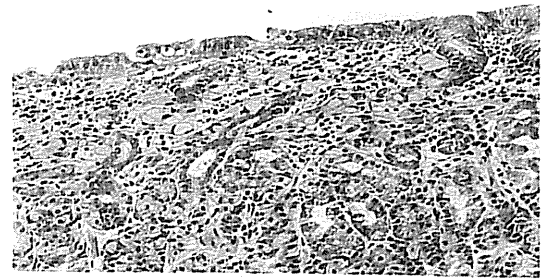


図 1 粘膜内の印環細胞癌

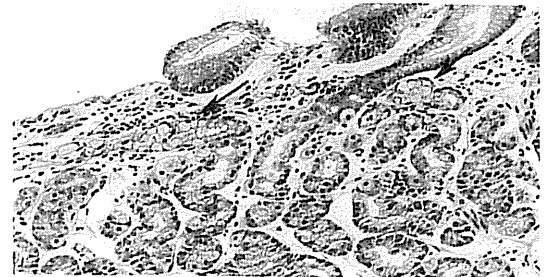


図 2 基底膜内の上皮内印環細胞癌 signet ring cell carcinoma in situ (矢印)

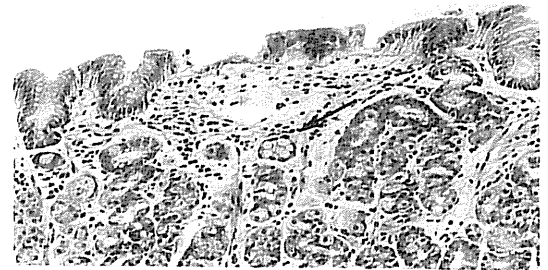


図 3 基底膜内の上皮内印環細胞癌 signet ring cell carcinoma in situ (矢印)

る。いわゆる F line に最も多いという論文もあるが、最近のものをみると分布はあまり特徴的ではない。比較的近位に plot されている。このような分布を前提とすると内視鏡でどこを探して取ってくるかというためには貴重な情報であろう。

自験例<sup>13)</sup>は、長子が 20 代かつ胃癌で亡くなり、軽い胃の不調でも心配で来院した 20 代だが、すぐに内視鏡で（取り立てて、意識せず普通の所作で）印環細胞癌がでて手術となっている。遺伝子解析はその後に行われているので、米国の状況とはだいぶ異なる。ただ、国際的にはこのように内視鏡医の技量頼みというわけにいかないと思う。

前述のように、切除胃から多数切片を切りだすのは日本の病理医のお家芸であるから、複数の未分化系胃癌がみられた症例の報告は HDGC の報告以前からあるし、また、病理医の記憶にとどまっている。未発表の例も含めこれまで検索したかぎりでは本邦の HDGC 例の組織像はほぼ、欧米からの報告と同様である。非常に aggressive な組織像が死亡例などでみられる場合と、多発

病変がほとんど早期にとどまっているような場合とがあるが、それが発見時期のためなのか、*CDH1*の変異の種類によるのかは不明である。自験例の主たる粘膜内の腫瘍病変(図1), signet ring cell carcinoma *in situ*のようにみえる病変2か所(図2,3)を呈示する。

今後、逆に組織像から遺伝的素因を疑わせるような特徴が記載されるであろう。なにせ、こんな病変は非特異的にみられると思っても実際の病理診断の現場で遺伝子解析付きの検体をみているわけではない。かつて恩師の喜納勇教授は胃炎や腸上皮化生は日本人の胃ほとんどすべてにみられるので、重大な疾患とは考えていなかったが、北欧のヒトの胃粘膜をみて驚愕したと語っておられた。もちろん逆も真で、北欧の病理学者は日本人の胃粘膜は病気の宝庫であり、疾患研究の対象に大になり得たのである。HDGC例あるいは*CDH1*変異キャリアーの胃粘膜の病理組織像をみても、その著者の恐らくは何千倍もの数のプレパラートをみているはずの本邦の病理医は、私も含め本当にこれが特異的な所見なのだろうかと思いついて深くなっている。この意味で、今後、遺伝子型がわかった症例の胃粘膜の所見を詳細に観察する機会が増すことで、目から鱗が落ちるような体験をすることができるのではないかと楽しみである。

#### IV. ミスセンス変異の意義

*CDH1*の機能解析は特にミスセンス変異の場合、その病的意義を主張するには(あるいは論文にするには)機能的解析が必須であるとされる。collagen assayやinvasion assayが推奨されている。もっとも、*in vitro*の人工的な環境下ばかりでなく、さらにヒト集団対照群(この定義がまた問題であるが)での頻度を確認することが重要かと思われる。近年、TaqMan<sup>TR</sup>として流通している定量的PCRによってalleleを区別する方法があり、ミスセンス変異の検体や、あるいは人工的に合成した鋳型を用いると数百のgenotypingが短期間にでき、症例対照研究やコホート研究レベルの検体数について検討可能だという(山田英孝, 私信)。今までの報告をまとめた論文などの表のなかのミスセンス変異の意義も今後さらに明らかになっていくと思われる。

#### おわりに

当教室では、喜納勇教授の時代に始まり、新村、山田と長年にわたり探索を続けている。労力の割になかなか典型的なHDGCが現れてくれなかったが、いったん症例が現れると、散發的ではあるが他施設からの問い合わせもある。未発表データなので断言はできないが、無視できない頻度で本邦にもあるのではと思われる。特に、

詳細な胃癌全割標本の所見から想起するといった、現場の臨床医や病理医の興味が高まっている印象を受けている。

遺伝的要因の関係するかもしれない胃癌については、HDGC以外にも多々ある。本邦では報告がまったくないわけではないが、あまりよくわかっていないというレベルの、本邦ではまだ、幻の遺伝性消化管腫瘍にはMUTYH associated polyposisとか、過形成ポリポシスを伴う遺伝性疾患などがあるが徐々に明らかになっていくと思われる。病理からみてもgenotypeを伴ったphenotypeの解析が、われわれの目自体も進歩させていくのではないかとと思われる。

謝辞 本研究は一部喫煙研究財団、高松宮妃がん研究基金、文科省、厚労省、国立がん研究センターがん研究開発費の補助を受けたものです。HDGCの組織像について有益な議論をいただいた鹿児島大学の藤田浩博士(文献<sup>11)</sup>の著者)に謝意を表します。発表例、未発表例について、多くの臨床医・病理医の方、患者様やそのご家族にご協力をいただいております。個々の施設名、お名前などをだせませんが一括して謝意と敬意を表したいと思います。また、組織像に関心のある方は、ご一報下されればvirtual slideのsiteをお教えます。

#### 文 献

- 1) Guilford P, Hopkins J, Harraway J, *et al*: E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 392(6674): 402-405, 1998.
- 2) Shinmura K, Kohno T, Takahashi M, *et al*: Familial gastric cancer: clinicopathological characteristics, RER phenotype and germline p53 and E-cadherin mutations. *Carcinogenesis* 20(6):1127-1131, 1999.
- 3) Yamada H, Shinmura K, Okudela K, *et al*: Identification and characterization of a novel germ line p53 mutation in familial gastric cancer in the Japanese population. *Carcinogenesis* 28(9):2013-2018, 2007.
- 4) Shinmura K, Goto M, Tao H, *et al*: A novel STK11 germline mutation in two siblings with Peutz-Jeghers syndrome complicated by primary gastric cancer. *Clin Genet* 67(1): 81-86, 2005.
- 5) Kluij I, Sijmons RH, Hoogerbrugge N, *et al*: Familial gastric cancer: guidelines for diagnosis, treatment and periodic surveillance. *Fam Cancer* 11(3): 363-369, 2012.
- 6) Park JG, Yang HK, Kim WH, *et al*: Report on the first meeting of the International Collaborative Group on Hereditary Gastric Cancer. *J Natl Cancer Inst* 92(21): 1781-1782, 2000.
- 7) Caldas C, Carneiro F, Lynch HT, *et al*: Familial gastric cancer: overview and guidelines for management. *J Med Genet* 36(12): 873-880, 1999.
- 8) Brooks-Wilson AR, Kaurah P, Suriano G, *et al*: Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet* 41(7): 508-517, 2004.
- 9) Shah MA, Salo-Mullen E, Stadler Z, *et al*: De novo CDH1 mutation in a family presenting with early-onset diffuse gastric cancer. *Clin Genet* 82(3): 283-287, 2012.
- 10) Fitzgerald RC, Hardwick R, Huntsman D, *et al*: Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. *J Med Genet* 47(7): 436-444, 2010.
- 11) Fujita H, Lennerz JK, Chung DC, *et al*: Endoscopic sur-

- veillance of patients with hereditary diffuse gastric cancer: biopsy recommendations after topographic distribution of cancer foci in a series of 10 CDH1-mutated gastrectomies. *Am J Surg Pathol* 36(11): 1709-1717, 2012.
- 12) Yamada H, Shinmura K, Yamamura Y, *et al*: Identification and characterization of a novel germline p53 mutation in a patient with glioblastoma and colon cancer. *Int J Cancer* 125(4): 973-976, 2009.
- 13) Yamada H, Shinmura K, Ito H, *et al*: Germline alterations in the CDH1 gene in familial gastric cancer in the Japanese population. *Cancer Sci* 102(10): 1782-1788, 2011.
-

## Early-onset diffuse gastric cancer associated with a de novo large genomic deletion of *CDH1* gene

Shinya Sugimoto · Hidetaka Yamada · Masazumi Takahashi ·  
Yuichi Morohoshi · Naotaka Yamaguchi · Yuya Tsunoda ·  
Hiroyuki Hayashi · Haruhiko Sugimura · Hirokazu Komatsu

Received: 26 February 2013 / Accepted: 31 May 2013  
© The Author(s) 2013. This article is published with open access at Springerlink.com

**Abstract** A 41-year-old man with no familial history of gastric cancer was diagnosed as with intramucosal early gastric cancer. Two months after the first endoscopic submucosal dissection for signet-ring cell carcinoma (SRCC), the appearance of previously unrecognized multiple erosions of SRCC was noticed. Pathological examination after a total gastrectomy and Roux-en-Y reconstruction with D2 lymph node dissection were performed. Postoperative pathological examination revealed 90 and more lesions, which tempted the attending pathologist to refer to genetic tests for the predisposition though the patient had no familial history of gastric cancer. There were no mutations in all the exons of *CDH1* with conventional DNA sequencing, but multiplex ligation-dependent probe amplification, and reverse transcription-polymerase chain reaction analyses disclosed a large genomic deletion (c.1566-?\_1711+?del), leading to the mRNA with loss of the exon 11. Among family members, his son was found to be a carrier of this change, while his parents were negative

for the familial *CDH1* mutation, implying that this change is a de novo event in the proband. The present report is the first description of a de novo large genomic deletion of *CDH1* gene associated with early-onset diffuse gastric cancer. When the clinician finds a relatively-young patient who has multiple SRCCs, *CDH1* germline mutation should be considered, even for patients with no familial history.

**Keywords** Endoscopic submucosal dissection · Signet-ring cell carcinoma · Stomach neoplasms · *CDH1* · Mutation

### Introduction

Endoscopic submucosal dissection (ESD) is the preferred treatment method for locally dissecting early gastric cancer (EGC) with a negligible risk of lymph node metastasis [1]. Currently nearly 100 % curability has been achieved for EGC with radical surgery, thus ESD is also expected to be performed at a comparable success rate. Metachronous recurrence of EGC after ESD is an important problem, but recurrence can be detected with adequate follow-up endo-gastroduodenoscopy (EGD), and most patients can receive early endoscopic treatment again [2]. In Japan, the previous consensus has recommended curative ESD that are indicated only for small intramucosal differentiated-type EGC [1]. Recently, the criteria have been expanded to other pathological types such as the undifferentiated-type under regulated conditions [3–5].

In Japan, gastric cancer is a major cause of cancer death, and *Helicobacter pylori* infection is considered to be a major cause of gastric cancer [6]. Although epidemiological studies have shown that there are patients who have a significant familial history of gastric cancer, the

S. Sugimoto · Y. Morohoshi · Y. Tsunoda · H. Komatsu (✉)  
Department of Gastroenterology, Yokohama Municipal Citizen's  
Hospital, 56 Okazawa-cho, Hodogaya-ku, Yokohama,  
Kanagawa 240-8555, Japan  
e-mail: hi00-komatsu@city.yokohama.jp

H. Yamada · H. Sugimura  
Department of Tumor Pathology, Hamamatsu University School  
of Medicine, Hamamatsu, Japan

M. Takahashi · N. Yamaguchi  
Department of Gastroenterological Surgery, Yokohama  
Municipal Citizen's Hospital, Yokohama, Japan

H. Hayashi  
Department of Pathology, Yokohama Municipal Citizen's  
Hospital, Yokohama, Japan



pathogenesis of familial gastric cancer (FGC) has not been clearly explained. *CDH1* germline mutations are associated with the development of autosomal cancer syndrome, namely hereditary diffuse gastric cancer (HDGC); about 25–30 % of families fulfilling the clinical criteria for HDGC established by the International Gastric Cancer Linkage Consortium (IGCLC) have constitutional alterations of the *CDH1* gene [7]. The *CDH1* gene maps to chromosome 16q22.1 and consists of 16 exons that encode E-cadherin, which is a major component of adherens junctions. Carrying the abnormal *CDH1* gene confers more than an 80 % lifetime risk of developing gastric cancer.

In 2012, the first conclusive case of a de novo *CDH1* germline mutation (c.1792 C>T (R598X)) in a woman whose daughter was diagnosed with early-onset diffuse gastric cancer was reported [8]. On the other hand, *CDH1* germline mutations can also be identified in sporadic early-onset gastric cancer in less than 4 % of patients who are 35 years of age at the time of diagnosis, presenting as de novo mutations [9]. Although the incidence of gastric cancer is relatively high in Japan, the detection rate of *CDH1* germline mutations in Japanese patients with FGC is low compared to that in European patients [10].

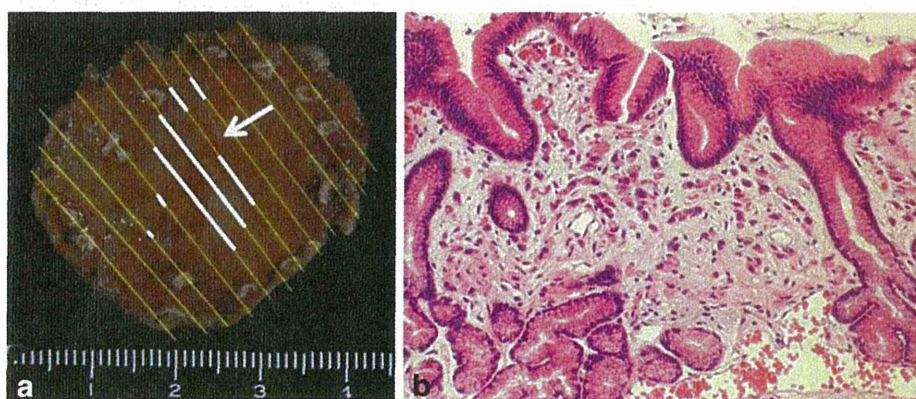
We report the first case of early-onset diffuse gastric cancer associated with a de novo large genomic deletion of *CDH1* gene, and the pathological feature including gross appearance of the surgical specimen of the stomach was pathognomonic.

### Case report

An asymptomatic 41-year-old man was admitted to our hospital with EGC revealed by cancer screening EGD.

There were no abnormalities in the physical examination or laboratory data, and no medical history of malignant tumors. He smoked 20–60 cigarettes a day for 22 years. An enzyme immunoassay to qualitatively detect serum IgG antibodies to *Helicobacter pylori* was negative. A protruding lesion, 5-mm in size, with erosion was observed on the greater curvature of the antrum and no other lesions were observed endoscopically. Biopsy from the erosion indicated signet-ring cell carcinoma (SRCC). ESD was performed on the lesion in accordance with clinical trial (JCOG1009/1010) [5], resulting in en bloc resection. Precise pathological examination of 3- to 4-mm slices from the entire specimen revealed a lesion, 13 × 13 mm in size, which was a SRCC limited in the mucosal layer (Fig. 1a, b). Lymphovascular involvement was not observed and horizontal/vertical margins were negative. According to the above-mentioned pathological analysis, the definitive diagnosis was f Stage IA SRCC (L, Gre, 0-IIb, pT1a, cN0, cH0, cP0, cM0) and resection was thought to be curative [1].

Follow-up EGD performed 2 months later revealed no local recurrences at the ESD site, but three new erosions appeared on the gastric angle and antrum (Fig. 2a, b). Biopsies from these erosions again indicated multiple lesions of SRCC. Apparently they were likely to be intramucosal, but there was a high incidence of metachronous multiple lesions. We considered the possibility of HDGC that we could not control multiple SRCCs by repeated ESD or distal gastrectomy similar to a previous report [11]. After the explanation about the risk for recurrence or metachronous lesions in any part of the stomach, next month, a total gastrectomy and Roux-en-Y reconstruction with D2 lymph node dissection were carried out as the patient wished. Postoperative pathological examination revealed that 90 and more lesions, each less than 5-mm in

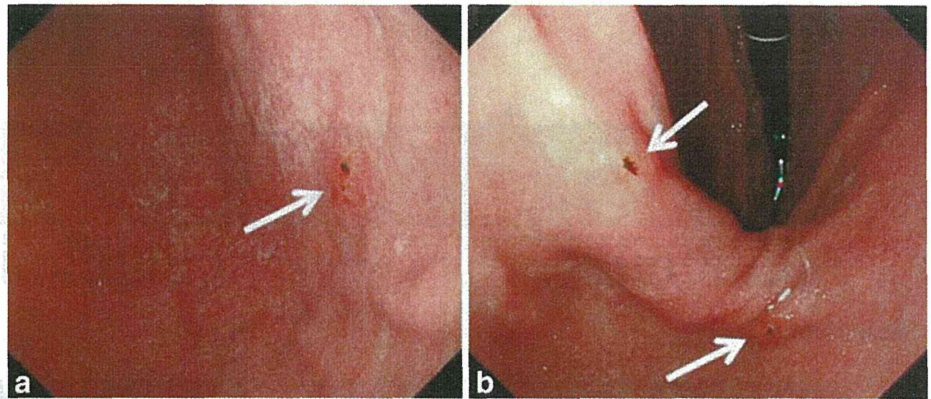


**Fig. 1** **a** Lesion resected with ESD. Resected specimen was 40 × 38 mm. The lesion was step-sectioned at 3- to 4-mm intervals, and then examined pathologically. Although SRCCs at the biopsy site disappeared (as an arrow indicates), the entire specimen revealed a lesion 13 × 13 mm in size (as white lines indicate). The resection

was curative and the horizontal margin was 6.5 mm. **b** The specimen showed localized neoplastic cells with signet-ring features limited to the mucosal layer. Signet-ring cells are easily detected on Haematoxylin and eosin (H&E) sections



**Fig. 2** EGD view 2 months after ESD. EGC is visible as the arrows indicate. **a** The posterior wall of the lower gastric body, near the gastric angle. **b** The lesser curvature of the gastric angle and the distal antrum



**Fig. 3** Surgical specimen. Postoperative pathological examination revealed 90 and more lesions. White circles indicate infiltrating SRCCs

size, showing type 0-IIb SRCCs in the mucosal layer, and they were distributed in the whole stomach (Fig. 3). The lesions may be missed by a cursory look. The reason for the discrepancy between preoperative endoscopic findings and final pathological diagnosis would be the difficulty in locating endoscopically SRCC foci in the superficial lamina propria, just beneath normal-looking surface epithelium or gastric pits. The tumor cells had a low proliferative index and reduced expression of E-cadherin with immunohistochemistry (Fig. 4c). We suspected the involvement of a genetic abnormality of *CDH1*, although he had no familial history of gastric cancer and did not meet clinical criteria for HDGC defined by the IGCLC [7].

After informed consent was obtained, DNA was extracted from the peripheral blood of the patient. First, a polymerase chain reaction (PCR)-direct sequencing analysis was performed for all the exons of *CDH1*, but no

mutations were identified. Next, a multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) analysis was performed as previously described [12] (Fig. 4a). This revealed that the exon 11 of the *CDH1* transcript was heterozygously deleted in this case; thus, a heterozygous c.1566-?\_1711+?del germline mutation existed in the proband. For validation, *CDH1* copy numbers in exons 11 were measured using TaqMan copy number assays according to the manufacturer's instructions, and the copy number was 1 (the normal copy number is 2) (Fig. 4b).

A program of genetic counseling and DNA testing was provided to other members of his family (Fig. 5). We could not contact his brother. Predictive genetics testing was performed on his parents and his son. Among family members, his 15-year-old son was a carrier of the mutation, and his 71-year-old father and 65-year-old mother were negative for the familial *CDH1* mutation. These results lead to the conclusion that a large genomic deletion of *CDH1* gene identified in this proband and in his son probably occurred de novo in the proband. The proband's 13-year-old daughter has not yet been tested.

## Discussion

E-cadherin is a calcium-dependent cell membrane protein involved in cell-cell adhesion and confers cell polarity [13]. *CDH1* mutations are associated with a risk of early-onset diffuse gastric cancer, in addition to increased risk of lobular breast cancer and signet-ring colon cancer [7]. There was a report of six patients from one large kindred who underwent total gastrectomy for *CDH1* mutation without any evidence of gastric cancer from detailed preoperative imaging studies, including high magnification endoscopy with methylene blue chromoendoscopy and multiple random biopsies. Each patient was found to have multiple sites of invasive diffuse SRCC without lymph node metastases [14]. The guideline recommends advising *CDH1* mutation positive patients with normal gastric